

---

ARTIGO ORIGINAL

# Serodiagnóstico da tuberculose. O valor dos antígenos glicolipídicos, do antígeno A60 e do P.P.D. no diagnóstico da tuberculose\*

MARIA JOÃO MARQUES GOMES (1), LAURA BRUM (2), BERTA MENDES (1), EDUARDA PESTANA (1), JESUVINO HENRIQUES (1), MARIA JOÃO TAVARES (1), ANA MINEIRO (1), PAULA PINTO (1), CARLOS GALVÃO LUCAS (1), ESMERALDO ALFARROBA (3), RAMIRO ÁVILA (4) E HUGO DAVID (2)

---

## RESUMO

Neste trabalho, em face dos resultados promissores obtidos com os antígenos glicolipídicos no diagnóstico do *Mycobacterium tuberculosis*, avaliamos a sensibilidade e especificidade de 2 antígenos proteicos, o Antígeno 60 e o PPD e três antígenos glicolipídicos: diaciltrialose (D.A.), sulfolípido 1 (SLI) e fenolglicolípido da tuberculose (PGL-Tb). Para as determinações efectuadas usámos a técnica de ELISA.

---

\* 2ª Parte da Aula de Agregação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa

- (1) Serviço de Pneumologia 4. Hospital de Pulido Valente. Faculdade de Ciências Médicas. Universidade Nova de Lisboa.
- (2) Laboratório de Microbiologia do Instituto de Medicina Tropical e da Faculdade de Ciências Médicas. Universidade Nova de Lisboa.
- (3) Hospital Militar de Santa Maria de Belém. Lisboa.
- (4) Professor Catedrático de Pneumologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa. Director do Hospital de Pulido Valente

Recebido para publicação em 96.6.5

Estas determinações foram realizadas nas seguintes populações: doentes com Tuberculose activa confirmada pela identificação do *Mycobacterium tuberculosis* em exame cultural, doentes com Tuberculose inactiva, doentes com patologias respiratórias não tuberculosas e controlos saudáveis.

Em todos os indivíduos doentes e saudáveis foi efectuado um teste de Mantoux empregando Tuberculina RT23 a 2 Unidades Internacionais. No grupo de doentes com tuberculose activa foi realizada a pesquisa de anticorpos anti-VIH1 e anti-VIH2 por ELISA e Western-blot. Avaliou-se a forma de tuberculose, tendo-se considerado 3 grupos de doentes: com evidência de doença exclusivamente pulmonar, com evidência de doença exclusivamente extrapulmonar e com evidência de doença pulmonar e extrapulmonar; avaliou-se a extensão radiológica das lesões nas formas pulmonares e tendo em consideração a classificação da *American Thoracic Society* e o número de linfócitos por mm<sup>3</sup>. Determinou-se o "cutt-off" para cada antígeno usado, sendo de 500 D.O. para o antígeno 60 e de 200 D.O. para os antígenos glicolipídicos. Para cada antígeno avaliou-se a sua sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. Foram considerados positivos os valores acima do "cutt-off" e como negativos os restantes.

Nos doentes com Tuberculose activa, avaliámos a correlação dos níveis séricos de cada antígeno com a forma de Tuberculose, com a extensão radiológica nas formas pulmonares, com a existência de serologia positiva para anticorpos anti-VIH.

Obteve-se uma excelente especificidade com todos eles (93-98%), o mesmo não se podendo afirmar quanto à sensibilidade, já que oscilou entre os 22,4% para o PGLTb 1 e os 66,4% para o SL-1.

Concluimos tecendo comentários aos resultados obtidos. Procuramos situar a serologia no diagnóstico da Tuberculose, apesar das dificuldades resultantes de uma sensibilidade inferior à desejável na sua aplicação clínica.

## INTRODUÇÃO

Os actuais dados epidemiológicos sobre a Tuberculose e as previsões para o futuro próximo demonstram claramente que esta afecção está longe de estar resolvida (11). A luta contra este flagelo, assenta prioritariamente no diagnóstico e no tratamento. No que diz respeito à primeira vertente, o diagnóstico, é do conhecimento geral a morosidade de que se reveste o exame cultural e a tipificação do *Mycobacterium tuberculosis*. Temos pois assistido a uma procura constante de novos métodos de diagnóstico, que permitam uma mais rápida resposta.

No início dos anos 80, foi identificado um antígeno glicolipídico do *Mycobacterium leprae*, capaz de provocar a formação de anticorpos específicos nos doentes com Lepra e nos seus contactos (1); este facto veio a despoletar o interesse pela identificação de outros antígenos glicolipídicos noutras micobactérias, nomeadamente no *Mycobacterium tuberculosis*.

TORGAL GARCIA et al. (15) e PAPA, LASZLO e DAVID (12), demonstraram a especificidade dum antígeno glicolipídico do *Mycobacterium tuberculosis* (PGL-Tb1), cuja estrutura molecular tinha sido previamente estabelecida por DAFFÉ (3). PAPA, CRUAUD e DAVID (14) estudaram a imunogenicidade e a especifici-

cidade de três outros antígenos glicolipídicos com interesse: um idêntico ao SL-1 descrito por GOREN (8), o sulfolípido IV (SL-IV) (3) e um lipopolissacárido, o poliftienoil trehalose (PPTR) (2). O PPTR não mostrou capacidade antigénica, ao contrário dos restantes; o SLIV, actualmente designado por DAT mostrou-se o mais imunogénico, seguido pelo PGL-Tbl e o SL-1. A análise da especificidade destes antígenos, mostrou ser elevada. Mais recentemente um lipopolissacárido (LOS) isolado de *Mycobacterium tuberculosis* por PAPA, CRUAUD, LUQUIN et al foi avaliado no serodiagnóstico (14) e estes Autores sugerem que o LOS é um antígeno mais interessante que o DAT.

### Objectivos:

Face aos resultados promissores dos antígenos glicolipídicos para o *Mycobacterium tuberculosis* resolvemos dosear os níveis de anticorpos específicos para estes antígenos com o objectivo de avaliar o seu interesse na prática clínica. Pretendemos avaliar:

1. A sensibilidade e especificidade de dois antígenos proteicos comercializados, o Antígeno A60 e o PPD e três antígenos glicolipídicos: diaciltrialose (D.A.T.), sulfolípido 1 (SL1) e fenolglicolípido da Tuberculose (PGL-TB1).
2. O seu interesse no diagnóstico da infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*
3. O seu interesse no diagnóstico da Tuberculose doença.
4. A sua eventual correlação com as diferentes formas clínicas de Tuberculose.
5. O seu valor no diagnóstico da Tuberculose nos indivíduos com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA ).

### MATERIAL E MÉTODOS

A determinação do Antígeno A60 foi realizada usando kits comerciais ANDA-Tb *Biologicals*®. O PPD usado foi o PPD RT23 comercializado pelo *Statens Seruminstitut* de Copenhaga. Os extractos antígenos DAT, SL-1 e PGL-Tbl foram extraídos,

purificados e caracterizados como descrito por PAPA et al. (2,13). Para as determinações efectuadas usámos a técnica de ELISA.

Foram analisadas as seguintes populações: doentes com Tuberculose activa confirmada por exame bacteriológico cultural, doentes com Tuberculose inactiva afirmada na história clínica anterior de Tuberculose, presença de lesões radiológicas e na ausência de *Mycobacterium tuberculosis* na expectoração, doentes com outras patologia respiratórias e controlos saudáveis.

Em todos os indivíduos doentes e saudáveis foi efectuada uma prova de Mantoux empregando Tuberculina RT23 titulada a 2 Unidades com leitura às 72 horas e expressão do resultado em milímetros de induração.

Avaliou-se a forma de Tuberculose, tendo-se considerado 3 grupos de doentes: doentes com evidência de doença exclusivamente pulmonar, doentes apenas com evidência de doença extrapulmonar e doentes com evidência de doença pulmonar e extrapulmonar; avaliou-se a extensão radiológica das lesões nas formas pulmonares e tendo em consideração a classificação da *American Thoracic Society*. No grupo de doentes com Tuberculose activa foi realizada a pesquisa de anticorpos anti-VIH1 e anti-VIH2 por ELISA e Westernblot, após consentimento expresso pelos doentes.

Para cada antígeno avaliou-se a sua sensibilidade, especificidade, valor predictivo positivo e valor predictivo negativo e a eficácia diagnóstica. Foram considerados positivos os valores acima do "cut-off" e como negativos os restantes. Para o antígeno A60 usou-se um "cut-off" de 500 (D.O. x 1000) e para o PPD e os antígenos glicolipídicos, o "cut-off" foi de 200 (D.O. x 1000).

Nos controlos saudáveis os resultados foram também avaliados em função da existência ou não de cicatriz vacinal resultante da vacinação com B.C.G. Nos doentes com Tuberculose activa, avaliámos a correlação dos níveis séricos dos anticorpos específicos para cada antígeno com a forma de Tuberculose, com a extensão radiológica nas formas pulmonares, com a existência de serologia positiva para anticorpos anti-VIH.

## RESULTADOS

## 1. Caracterização das populações estudadas

Foram incluídos 197 indivíduos distribuídos por 4 grupos. O grupo "Tuberculose" incluía 107 doentes com Tuberculose em actividade, o grupo "Sequelas", incluía 15 doentes com sequelas de Tuberculose sem actividade, o grupo de indivíduos com outras doenças respiratórias não tuberculosas que abrangia 25 doentes e finalmente, o grupo "Saudáveis" formado por 50 recrutas do Exército Português. As características demográficas destes indivíduos estão discriminadas no Quadro I.

Os doentes com Tuberculose em actividade, foram subdivididos em 3 subgrupos consoante as localizações das lesões. Só tinham evidência de compromisso pulmonar 80 (74,8%) doentes, exclusivamente extrapulmonar 8 (7,5%) doentes e compromisso pulmonar e extrapulmonar 19 (17,8%) doentes.

O diagnóstico de Tuberculose assentou na cultura e identificação do *Mycobacterium tuberculosis* em cultura em 103 doentes (96,3%) e na presença de granulomas com caseificação em fragmentos de tecido pleural em 3 doentes e de epiplon num quarto (Quadro II).

Os doentes com Tuberculose pulmonar foram também classificados consoante a extensão radiológica. Tinham formas muito extensas 52 (66,7%) doentes, moderadamente extensas 23 (29,5%) doentes e mínimas 3 doentes (3,8%). Em todos os doentes com Tuberculose em actividade foram pesquisados os anticorpos anti-VIH 1 e anti-VIH2, tendo sido positivos para o VIH 1 em 18 doentes (16,8%); nenhum doente tinha anticorpos para o VIH2.

No que diz respeito aos doentes com sequelas de Tuberculose o intervalo de tempo que mediou entre a Tuberculose activa e a colheita de sangue variou entre os 3 e os 54 anos (média  $34,1 \pm 18,1$  anos).

Quanto às patologias dos doentes não tuberculosos, 7 doentes tinham neoplasias primitivas ou secundárias do pulmão, 2 pneumonias, 4 doentes tinham derrames pleurais (cardiogénicos em 2 doentes e infecciosos

noutros 2), 4 doentes tinham bronquite crónica, 7 tinham asma brônquica e um tinha bronquiectasias.

Quadro I

Características das populações

Grupos	Sexo	Idade
Tuberculose n=107	82 M 25F	16/82 40,8±16,8
Sequelas de Tuberculose n=15	7 M 8 F	26/80 60,3±15,4
Outras doenças respiratórias n=25	11 M 14 F	17/89 60,5±18,5
Saudáveis n=50	50 M	19,4±1,0

Quadro II

Formas clínicas e confirmação do diagnóstico dos doentes com Tuberculose

Forma clínica	Exame directo	Exame cultural
Pulmonar n=80	46/80 (57,5%)	80/80 (100%)
Extrapulmonar n=8	1/8 (12,5%)	5/8 (62,5%)
Pulmonar e extrapulmonar n=19	12/19 (63,2%)	18/19 (94,7%)
Total n=107	59/107 (55,2%)	103/107 (96,3%)

### 1. Avaliação da sensibilidade e especificidade de 1 antígeno proteico comercializado, o Antígeno A60, do PPD e três antígenos glicolipídicos: diacil-trialose (D.A.T.), sulfolipido 1 (SL1) e fenolglicolipido da Tuberculose (PGL-TB1).

Avaliou-se a especificidade e a sensibilidade dos testes efectuados com cada um dos antígenos, tendo-se encontrado os valores que se descrevem no



**SERODIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE. O VALOR DOS ANTIGÊNIOS GLICOLIPÍDICOS, DO ANTIGÊNIO A60 E DO P.P.D. NO DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE**

Quadro III. Obtivemos uma boa especificidade mas a sensibilidade tem valores abaixo do desejável para um teste de diagnóstico. Dos 5 antígenos avaliados, o

**Quadro III**

Valor diagnóstico dos diferentes antígenos na totalidade dos doentes

Antígenos	Especificidade %	Sensibilidade %	V.P.P. %	V.P.N. %	Eficácia diagnóstica
DAT	96,0	40,2	95,6	42,9	57,9
SL-1	93,6	66,4	95,9	55,0	74,7
PGL-Tb1	98,0	22,4	96,0	37,1	46,5
PPD	98,0	32,7	97,1	41,9	54,3
A60	93,0	65,6	95,5	54,8	74,1

SL1 e o antígeno 60 foram os que apresentaram valores mais elevados, embora abaixo do que seria desejável em termos de aplicação clínica.

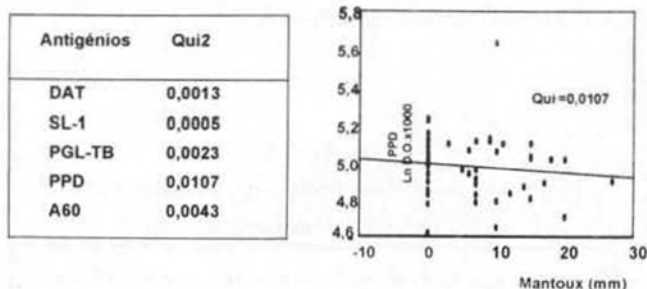
## 2. Avaliação do interesse daqueles antígenos no diagnóstico da infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*.

A fim de determinar o interesse que estes antígenos poderiam ter no diagnóstico da Tuberculose infecção, procedemos ao estudo da correlação existente entre os níveis de anticorpos específicos para cada um dos antígenos e a resposta à reação tuberculínica em milímetros, nos controles saudáveis, cujos resultados se apresentam no Quadro IV.

Analisamos também estes dados em função da existência ou não de cicatriz vacinal no sentido de saber se o B.C.G. teria alguma influência na interpretação destes resultados, não tendo também aqui encontrado qualquer correlação entre a resposta aos antígenos e a reação tuberculínica (Quadro V).

**Quadro IV**

Correlação entre a reação tuberculínica e os níveis de anticorpos para os antígenos avaliados



**Quadro V**

Correlação entre os níveis de anticorpos específicos para os antígenos avaliados e a reação tuberculínica, atendendo à vacinação BCG

Antígeno	Cicatriz vacinal	Qui <sup>2</sup>
DAT	Sim	0,0145
	Não	0,0399
SL-1	Sim	0,0268
	Não	0,0739
PGL-TB	Sim	0,1237
	Não	0,0381
PPD	Sim	0,0411
	Não	0,0022
A60	Sim	0,010
	Não	0,0003

## 3. Avaliação do interesse daqueles antígenos no diagnóstico da Tuberculose doença

A determinação da especificidade e da sensibilidade referida anteriormente já nos dão uma noção do interesse que o uso destes antígenos tem no diagnóstico de Tuberculose.

Em seguida fomos determinar estes parâmetros usando conjuntos de antígenos, conseguindo melhorar

significativamente a sensibilidade, como se pode observar nos Quadros VI e VII.

Fomos também comparar o interesse da baciloscopia directa, com o valor dos antígenos SLI e A60 e

**Quadro VI**

Valor diagnóstico dos diferentes antígenos na totalidade dos doentes

Antígenos	Especificidade (%)	Sensibilidade (%)	V.P.P. (%)	V.P.N. (%)	Eficácia diagnóstica (%)
DAT+SL-1	93,0	72,9	96,3	58,0	78,7
DAT+PGL	96,0	50,5	96,4	47,5	65,0
DAT+PPD	94,0	58,8	95,2	52,8	70,4
DAT+A60	88,4	73,3	93,7	58,5	77,8
SL-1+PGL	93,6	67,3	96,0	55,7	75,3
SL-1+PPD	91,5	75,5	95,2	62,3	80,4
SL-1+A60	85,4	87,4	93,7	72,9	86,8
PGL+PPD	96,0	47,6	96,1	47,1	63,4
PGL+A60	90,7	69,4	94,4	56,5	75,9
PPD+A60	90,7	76,8	94,8	63,9	81,2

**Quadro VII**

Valor diagnóstico dos diferentes antígenos na totalidade dos doentes

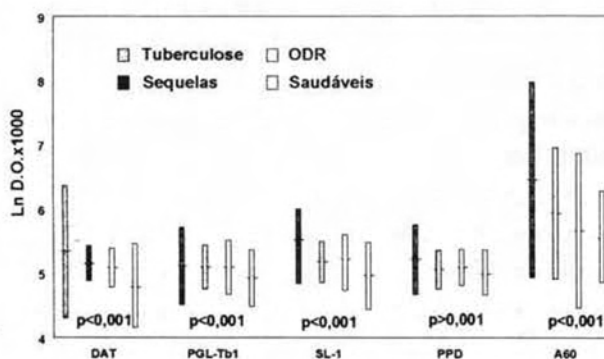
Antígenos	Especificidade (%)	Sensibilidade (%)	V.P.P. (%)	V.P.N. (%)	Eficácia diagnóstica (%)
DAT+SL-1+PGL	93,6	73,8	96,3	61,1	79,9
PPD+A60+SL-1	82,9	88,9	92,9	73,9	86,9
DAT+SL-1+PGL+PPD	91,5	80,4	95,6	67,2	83,8
DAT+SL-1+PGL+A60	85,4	87,5	93,1	72,9	89,9
DAT+SL-1+PGL+A60+PPD	82,9	88,6	93,0	73,9	87,0



**Gráfico 1**— Sensibilidade da baciloscopia e dos antígenos SLI e A60

ainda da baciloscopia associada a cada um destes antígenos (Gráfico 1). Da observação deste gráfico, é nítido que a sensibilidade da baciloscopia é inferior à dos antígenos SLI e A60; quando se associa a baciloscopia à determinação com um dos antígenos referidos a sensibilidade aumenta, embora se verifique uma redução da especificidade.

Avaliámos os resultados obtidos para os diversos antígenos com vários parâmetros, tendo-se começado por transformar os valores obtidos nos seus logaritmos naturais de modo a obter uma distribuição gaussiana, passando os "cut-off" dos antígenos glicolipídicos e do PPD para 5,3 e do Antígeno A60 para 6,2. No Gráfico 2 apresentam-se os valores médios para cada antígeno consoante os grupos considerados.



**Gráfico 2**— Resultados obtidos com os antígenos ensaiados em todos os indivíduos

#### 4. Avaliação da eventual correlação daqueles antígenos com as diferentes formas clínicas de Tuberculose.

Nos doentes com Tuberculose analisamos os dados em função da forma clínica e a extensão radiológica nas formas pulmonares, como se pode observar nos Gráficos 3 e 4, não se tendo encontrado diferenças significativas.

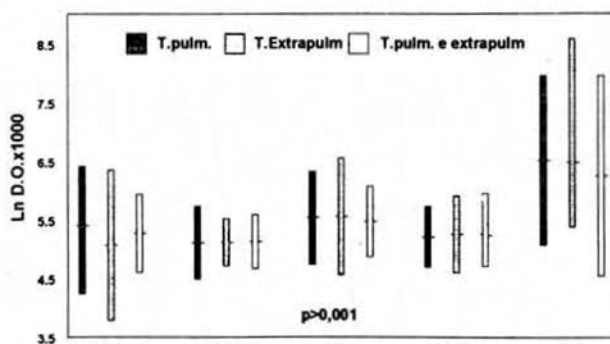


Gráfico 3— Resultados obtidos com os antígenos ensaiados em todos os indivíduos com Tuberculose

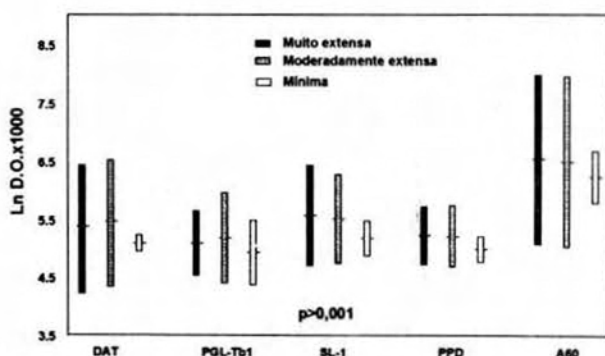


Gráfico 4— Resultados obtidos com os antígenos glicolipídicos nos doentes com Tuberculose, consoante a extensão radiológica das lesões

#### 5. Avaliação do interesse daqueles antígenos no diagnóstico da Tuberculose nos indivíduos com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida.

Avaliámos a especificidade e a sensibilidade dos vários antígenos nos doentes com Tuberculose e serologia positiva para o VIH, como se pode observar no Quadro VIII. No Gráfico 5 representam-se os

Quadro VIII

Valor diagnóstico dos diferentes antígenos nos doentes com SIDA

Antígenos	Especificidade (%)	Sensibilidade (%)	V.P.P. (%)	V.P.N. (%)	Eficácia diagnóstica (%)
DAT	96,0	22,2	66,7	77,4	77,4
SL-1	93,6	66,7	80,0	88,0	88,0
PGL	98,0	22,2	80,0	77,8	77,9
PPD	98,0	6,2	50,0	76,6	75,7
A60	93,0	38,5	62,5	83,3	80,4

valores médios  $\pm$  2 desvios padrões para cada um dos antígenos avaliados nos doentes com serologia positi-

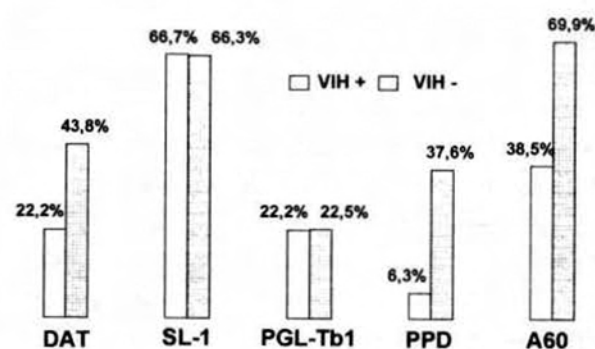


Gráfico 5— Sensibilidade dos diferentes antígenos nos indivíduos com Tuberculose

va e nos doentes com serologia negativa. Verifica-se que não existe diferença significativa entre os dois grupos de doentes para os antígenos glicolipídicos e

para os antígenos proteicos observa-se precisamente o contrário.

## DISCUSSÃO

A análise dos resultados da sensibilidade e da especificidade obtida para os antígenos avaliados mostrou uma boa especificidade, superior a 90% para todos; contudo a sensibilidade foi muito reduzida, para o PGL-Tb1, o PPD e o DAT, sendo mais satisfatória para o Ag60 e o SL-1, ainda que inferiores aos valores desejáveis para um exame que se pretende ter interesse no diagnóstico da Tuberculose. Aliás o Antígeno A60 e o SL1 foram os únicos para os quais a eficácia diagnóstica foi superior a 70%.

No que diz respeito ao interesse da determinação dos níveis de anticorpos específicos para estes antígenos no diagnóstico da Tuberculose infecção, pensamos que não há qualquer indicação, já que não houve qualquer correlação entre o hipersensibilidade tuberculínica e a presença de anticorpos específicos, nomeadamente para o PPD.

Voltando ao interesse destes antígenos no diagnóstico da Tuberculose, a sua sensibilidade aumentou claramente quando se usaram associações de antígenos, se bem que à custa de uma perda da especificidade. De qualquer modo o cálculo da eficácia diagnóstica é superior a 80% quando se usaram o SL1 associado ao PPD ou ao Antígeno A60, ou na associação dos 2 antígenos proteicos. A associação destes 3 antígenos com ou sem o DAT e o PGL-Tb1, elevaram mesmo os valores da eficácia diagnóstica acima dos 85%. Embora estes valores estejam abaixo do desejável (especificidade superior a 99% e sensibilidade superior a 70%) (10), a sensibilidade da microscopia óptica é ainda menor.

Não encontramos diferenças estatisticamente significativas quando avaliamos os resultados obtidos tendo em consideração as formas clínicas, nem a extensão radiológica das lesões nas formas pulmonares. Destes dados concluímos que o interesse do serodiagnóstico é igual nas diferentes formas clínicas de Tuberculose e independente da extensão radiológica das lesões nas formas com compromisso pulmonar.

Finalmente no que diz respeito aos valores obtidos nos doentes com Tuberculose e SIDA, não encontramos diferenças estatisticamente significativas entre os níveis médios obtidos nos doentes com e sem anticorpos anti-VIH no que diz respeito aos antígenos glicolipídicos, mas sim entre os proteicos. Ou seja, em face dos resultados obtidos nestas duas populações, os antígenos glicolipídicos têm interesse no serodiagnóstico da Tuberculose nos doentes com ou sem SIDA. O mesmo não acontece frente aos antígenos

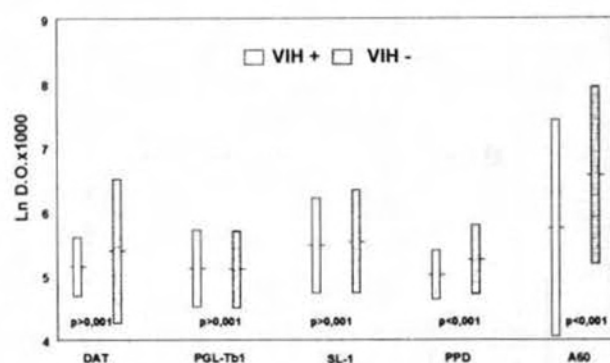


Gráfico 6— Resultados obtidos com os antígenos ensaiados em todos os indivíduos com Tuberculose

proteicos, uma vez que os doentes com SIDA têm valores séricos muito inferiores aos doentes sem SIDA, sendo muito reduzida a sensibilidade dos antígenos proteicos.

Resta avaliar se esta ausência de resposta dos doentes seropositivos varia em função do seu imunocomprometimento, facto que nesta série não podemos concluir dado o seu pequeno número.

## CONCLUSÕES

A aplicação dos antígenos glicolipídicos e proteicos no diagnóstico da Tuberculose em nosso entender fica aquém das expectativas que há longos anos neles se têm depositado, havendo necessidade de continuar a procurar antígenos ainda mais específicos que permitam uma melhor eficácia diagnóstica. No entanto, se atendermos a que diversos Autores apontam para uma sensibilidade de 60% para a identifica-



ção de bacilos álcool-ácido-resistentes, apercebemo-nos que o valor da determinação é idêntica.

A sua utilidade poderá ser maior nos casos de doença extrapulmonar em que a obtenção do *Mycobacterium tuberculosis* não seja fácil, desde que tenhamos presente que, tal com acontece na presença de bacilos álcool-ácido-resistentes, é necessário aguardar pela confirmação bacteriológica.

#### COMENTÁRIOS FINAIS

Pensamos que no momento actual, embora a serologia tenha o seu papel no diagnóstico, os métodos

bacteriológicos continuam a ser preferíveis, até pela sua necessidade para proceder ao estudo da sensibilidade aos antibacilares; aliás este é um ponto de primordial importância já que têm vindo a ser descritas resistências e multiresistências principalmente nos doentes com SIDA, transformando a Tuberculose numa doença de difícil tratamento ou mesmo incurável. A obtenção de métodos bacteriológicos de maior sensibilidade e mais rápidos deverão ser as próximas metas a atingir. O Bactec, o PCR e outras técnicas descritas nos últimos anos, estão ainda longe da generalização tendo em conta a sua complexidade técnica e os elevados custos, mas são para já uma pequena luz ao fundo do túnel.

#### BIBLIOGRAFIA

1. CHO SN, YANAGIHARA DC, HUNTER SW, BRENNAN PJ, - Serological specificity of phenolic glycolipid I from *Mycobacterium leprae* and use in serodiagnosis of leprosy. *Infect.Immun.*41:1077;1983
2. DAFÉ M, LACAVE C, LANIELE MA, GILLOIS, LANILLE C, - Polyphthienoyl trehalose, glycolipid specific for virulent strains of tubercle bacillus. *Europ.J.Biochem.* 172:579;1988
3. DAFÉ M, LACAVE C, LANIELLE MA, LANIELLE C, - Structure of the major triglycosylphatidylcerol of *Mycobacterium tuberculosis* (strain Canetti). *Europ. J.Biochem.*167: 155;1987
4. DANIEL TM, DEBANNE SM, -The serodiagnosis of tuberculosis and other Mycobacterial Diseases by Enzyme-linked immunosorbent assay. *Am.Rev.Resp.Dis.*135: 1137;1987
5. DANIEL TM, SIPPOLA AA, OKWERA A, KABENGERA S, HATANGA E, AISU T, NYOLE S, BYEKWASO F, VJECHA M, FERGUSON LE, KATAHA P, MUGERWA RD, - Reduced sensitivity of tuberculosis serodiagnosis in patients with AIDS in Uganda. *Tubercle and Lung Disease* 75:33;1994.
6. DAVID HL, PAPA F, CRUAUD P, BERLIE HC, MAROJA MF, SALEM JI, COSTA MF, -Relationship between titers of antibodies immunoreactively against glycolipid antigens from *Mycobacterium leprae* and *M.tuberculosis*. The Mitsuda and Mantoux reactions, and bacteriological loads; implication in the pathogenesis, epidemiology and serodiagnosis of leprosy and Tuberculosis. *Int.J.Leprosy* 60(2):208,1992
7. DELACOURT C, GOBIN J, GAILLARD JL, BLIÇ J, VERON M, SCHEINMANN P, -Value of ELISA using antigen 60 for the diagnosis of tuberculosis in children. *Chest* 104 (2): 393 ;1993
8. GOREN M, PAPA F, LASZLO A, DAVID HL, - Glycolipids of recent clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*: characterization and immunoreactivity. *J.Gen.Microbiol.* (in press)
9. GOREN MB, - Sulfolipid I of *Mycobacterium tuberculosis*, strain H37Rv II Structural studies. *Biochem. Biophys. Acta (Amst.)* 210:127,1970
10. KALLENIUS G, HOFFNER SE, MIORNER H, SVENSON, - Novel Approaches to the Diagnosis of Mycobacterial Infections. *Eur.Respir.J.* 7:1921; 1994
11. NARAIN JP, RAVIGLIONE MC, KOCHI A, - VIH-associated tuberculosis in developing countries: epidemiology and strategies for prevention. *Tubercle and Lung Disease* 73:311;1992
12. PAPA F, LASZLO A, DAVID HL, - Specificity of *Mycobacterium tuberculosis* phenolic glycolipid (PGL-tb) antiserum. *Ann.Inst.Pasteur* 139:535;1988
13. PAPA F, RIVIÈRE M, FOURNII JJ, PUZO G, DAVID HL, - Specificity of a *Mycobacterium Kansaii* phenoglycolipid (mycoside A) immunoserum. *J.Clin.Microbiol.*25: 2270;1987
14. PAPA F, CRUAUD P, LUQUIN M, THOREL MF, GOH KS, DAVID HL, - Isolation and characterization of serologically reactive oligosaccharides from *Mycobacterium tuberculosis*. *Rev.Microb.*144:91;1993

15. TORGAL GARCIA J, DAVID HL, PAPA F, - Preliminary evaluation of a *Mycobacterium tuberculosis* phenolglycolip antigen in the serologic diagnosis of tuberculosis. Ann. Inst. Pasteur/Microbiol.139:289; 1988